



Инновационная технология переработки масличного сырья с помощью ферментов

П.А. Некрасов^{1,2}, д.т.н., проф., Н.А. Ткаченко³, д.т.н., проф., Ю.Н. Плахотная¹, к.т.н., Е.В. Аверина¹, к.т.н.

¹ Национальный технический университет «Харьковский политехнический институт»

² Украинский НИИ масел и жиров НААН

³ Одесская национальная академия пищевых технологий

В работе исследовано влияние комплексных ферментативных препаратов целлюлолитического и протеолитического действия на процессы подготовки мятки к прессованию. В ходе проведенных экспериментов получена математическая модель, позволяющая прогнозировать выход масла при заданных значениях основных параметров, и установлены оптимальные условия процесса.

Ключевые слова: энзимные препараты, мятка, степень извлечения масла, поверхность отклика, оптимальные параметры

У роботі досліджено вплив комплексних ферментативних препаратів целюлолітичної та протеолітичної дії на процеси підготовки м'ятки до пресування. В ході проведених експериментів отримано математичну модель, яка дозволяє прогнозувати вихід олії за заданих значеннях основних параметрів, та встановлено оптимальні умови процесу.

Ключові слова: ензимні препарати, м'ятка, ступінь вилучення олії, поверхня відклику, оптимальні параметри

The influence of treatment using cellulolytic and proteolytic enzymes on the processes of oil seed meal preparation before pressing have been studied. Mathematical model that allows to predict the oil yield was obtained and optimal process conditions were estimated.

Key words: enzymes, oil seed meal, oil extraction degree, response surface, optimal conditions

1. Введение

В настоящее время для предприятий масложировой промышленности Украины все более актуальной становится проблема сохранения ресурсов и максимального использования сырья. Основной причиной является недостаточное функционирование ресурсосберегающих методов и технических средств на производстве, недооценка роли энергетического анализа уже существующих и новых технологий и техники.

Традиционные технологии переработки масличного сырья предполагают использование интенсивных тепловых и влаготепловых воздействий на обрабатываемый материал [1–3]. Это, в свою очередь, не только повышает затраты на производство, но и ухудшает качество и пищевую ценность получаемых продуктов за счет инактивации биологически активных компонентов.

Совершенствование методов подготовки растительного сырья к извлечению масла до последнего времени заключалось в изменении основных параметров процесса: влажности, температуры и времени обработки. Однако при рассмотрении масличного материала как сложной биологической системы имеются предпосылки целенаправленного воздействия на ее структуры для нарушения ассоциативных связей липидных глобул с компонентами клеточных стенок с целью повышения степени извлечения масла. Эффективным подходом в данном направлении является применение биокатализаторов – комплексных энзимных препаратов целлюлолитического и протеолитического действия.

Принимая во внимание специфическое и уникальное действие ферментов на обрабатываемый растительный

материал, актуальным заданием является исследование и разработка процессов переработки масличного сырья с использованием энзимов.

2. Анализ литературных данных и постановка проблемы

В последние годы на предприятиях масложировой отрасли возрастает интерес к внедрению и применению биотехнологий, основанных на ферментативном катализе. Ферментативная обработка растительного сырья позволяет получать масло в достаточно мягких условиях, сохраняя при этом физиологическую ценность и потребительские свойства готовой продукции [4–7].

В основе биокаталитических способов извлечения растительных жиров лежат процессы гидролитического расщепления белков и других нелипидных компонентов клетки в водной среде с дальнейшим выделением масла из эмульсии [8–11]. Важным условием проведения данного процесса является правильный выбор вида фермента. Так, например, в работе [12] использование ферментного комплекса, состоящего из препаратов с целлюлазной и протеазной активностью, позволило обеспечить степень извлечения масла от 70 до 80%.

Биотехнологическая обработка масличного сырья в значительной степени зависит от температурного режима ведения процесса и величины pH, которые должны находиться в значениях, обеспечивающих максимальную активность фермента.

При получении масла из соевых бобов с помощью ферментов процесс проводили при 50°C в течение часа. За последующий час температура поднялась до 63°C,



после чего фермент инактивировали кратковременной тепловой обработкой при 80°C [13]. Энзимная обработка семян подсолнечника, рапса и арахиса осуществлялась при температурах 40°C, 50°C и 65°C на протяжении 3 ч [14]. Оптимальные значения pH составили 4,5 и 5.

Необходимо учитывать также тот факт, что эффективность обработки масличного сырья ферментами зависит от типа процесса извлечения. Предварительная обработки семян подсолнечника паром и препаратом Viscozyme в процессе извлечения жира в системе с гексаном позволила достичь значительного выхода масла за 1 ч ведения экстракции [15]. Высокая степень извлечения липидов также наблюдалась при обработке ферментом Viscozyme семян конопли перед холодным прессованием. Выход масла составил 32,8%, что на 8% больше, чем в контрольном опыте [16].

Таким образом, извлечение масла из растительного сырья с участием биокатализаторов является достаточно перспективным направлением масложировой отрасли и имеет значительные преимущества перед традиционными процессами: увеличение выхода продукта наряду с сохранением биологической ценности, снижение интенсивности образования побочных продуктов.

В настоящее время недостаточно информации о совместном влиянии основных технологических параметров на процессы энзимной переработки масличного сырья и возможности их регулирования. Этим обуславливается необходимость проведения исследований в данном направлении с целью поиска оптимальных условий биокаталитической обработки сырья.

3. Цель и задачи исследования

Цель исследования – оптимизация параметров ферментативного процесса подготовки мятки семян подсолнечника к извлечению масла по критерию максимального выхода конечного продукта.

Для реализации цели работы поставлены следующие задачи:

- определить современные тенденции развития биокаталитических методов переработки растительного сырья;
- установить рациональные условия энзимного процесса обработки мятки перед прессованием;
- получить математические модели зависимости выхода масла от основных параметров.

4. Материалы, оборудование и методы, используемые в исследовании

4.1. Материалы

В работе в качестве исходного сырья были выбраны семена крупноплодного подсолнечника, характеристики которого приведены в табл. 1.

В качестве биокатализаторов, используемых в исследовании, применялись отечественные препараты «Протолад» и «Целюлад» (завод био- и ферментных препаратов «Энзим», г. Ладыжин, Украина). Ферментный препарат «Протолад» является бактериальной протеазой, получен-

ной путем направленной ферментации селекционного штамма *B. subtilis* с последующей очисткой [17]. Продукт изготовлен согласно ТУ У 24.1-32813696 [18] и отвечает спецификации ферментов пищевого качества, как рекомендовано FAO/WHO и FCC. «Целюлад» – сухой комплексный ферментный препарат для расщепления ксиланов и других некрахмальных полисахаридов, полученный путем направленной ферментации селекционного штамма *Tr. reesei*, с последующей очисткой и концентрированием [17]. Продукт относится к ферментам пищевого качества и соответствует рекомендованным спецификациям WHO и JECFA.

4.2. Оборудование

Обрушивание семян подсолнечника проводили на центробежной семенорушке-2 «ИХНО» производительностью 250 кг/ч [19].

Для измельчения семян использовали лабораторную дробилку-измельчитель РТ-1 с максимальной скоростью вращения ротора 8000 об/мин. Производитель – Одесский экспериментальный завод.

Прессование мятки осуществляли на лабораторном гидравлическом прессе под давлением 15-20 МПа в плющильной ячейке диаметром 150 мм [20].

4.3. Подготовка образцов

Мятку, полученную после измельчения обрушенных семян подсолнечника с исходной влажностью – 8% и масличностью – 60% (в пересчете на сухое вещество), подвергали влаготепловой обработке при температуре 80-85°C. Последующую ферментативную обработку масличного сырья проводили при постоянном перемешивании в следующих диапазонах варьирования основных параметров, выбранных в качестве независимых переменных: температура 44-60°C, содержание ферментного комплекса (ФК) 0,1-1% от массы мятки, количество воды 60-90% от массы мятки, длительность обработки 1-6 ч. Высушенную после обработки мятку с влажностью 6% прессовали при комнатной температуре. Контрольный опыт проводили аналогично за исключением энзимной обработки материала перед прессованием.

4.4. Методы, применяемые в работе

Метод определения влажности

Определение содержания влаги в семенах подсолнечника проводили согласно ДСТУ 4811 [21]. Суть метода заключается в нагревании пробы при температуре 100-105°C до полного удаления влаги и последующем определении потери массы.

Метод определения содержания сырого жира

Определение содержания сырого жира в семенах подсолнечника проводили согласно ДСТУ ISO 659 [22].

Таблица 1. Характеристики семян подсолнечника

Параметр	Значение
Масличность, %	49,5
Влажность, %	8
Лузжистость, %	28
Масса 1000 шт. семян, г	115



Метод основан на извлечении сырого жира и экстрактивных веществ из измельченного продукта исчерпывающей экстракцией с помощью растворителя при определенных условиях в аппарате Зайченко.

Методика поверхности отклика

Для оптимизации процесса ферментативной обработки мятки был использован метод поверхности отклика [23].

Указанный метод представляет собой совокупность математических и статистических приемов, направленных на моделирование процессов и нахождение комбинаций экспериментальных рядов предикторов с целью оптимизации функции отклика, которая в общем виде описывается следующим полиномом:

$$\mathcal{F}(x, a) = a_0 + \sum_{l=1}^n a_l x_l + \sum_{k=1}^n a_k x_k^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n a_{ij} x_i x_j \quad (1)$$

где $x \in R^n$ – вектор переменных, a – вектор параметров.

Определение неизвестных значений вектора параметров a осуществлялось с применением алгоритмов регрессионного анализа и оптимизации (минимизации) функционала отклонения:

$$J(x) = \sum_{i=0}^m \|y_i - \mathcal{F}(x, a)\|^2 \quad (2)$$

где m – количество экспериментальных данных y .

Моделирование и обработка экспериментальных данных проводилась с помощью пакета Statistica 10 (StatSoft, Inc.).

5. Результаты и обсуждение исследования влияния энзимной обработки на степень извлечения масла

Для исследования процесса энзимной обработки семян применялось центральное композиционное рототабельное планирование.

Матрица планирования и полученные экспериментальные данные представлены в табл. 2.

В результате эксперимента и математической обработки экспериментальных данных было получено уравнение регрессии (3):

$$Y = 68,49 + 0,93 \cdot t - 0,03 \cdot t^2 + 36,09 \cdot e - 11,78 \cdot e^2 - 0,72 \cdot m - 0,004 \cdot m^2 + 0,31 \cdot \tau - 0,29 \cdot \tau^2 - 0,127 \cdot t \cdot e + 0,026 \cdot t \cdot m + 0,039 \cdot t \cdot \tau - 0,100 \cdot e \cdot m - 0,467 \cdot e \cdot \tau + 0,013 \cdot m \cdot \tau \quad (3)$$

Для проверки значимости коэффициентов уравнения была построена диаграмма Парето, изображенная на рис. 1.

На диаграмме представлены стандартизованные коэффициенты, отсортированные по абсолютному значению. Согласно данным рис. 1 все эффекты и их взаимодействия являются значимыми для исследуемого процесса.

Адекватность полученной модели проверялась методом дисперсионного анализа, результаты которого представлены в табл. 3.

Данные, представленные в таблице 3, свидетельствуют о том, что полученная модель (3) адекватно описывает факторное пространство эксперимента в границах варьирования факторов.

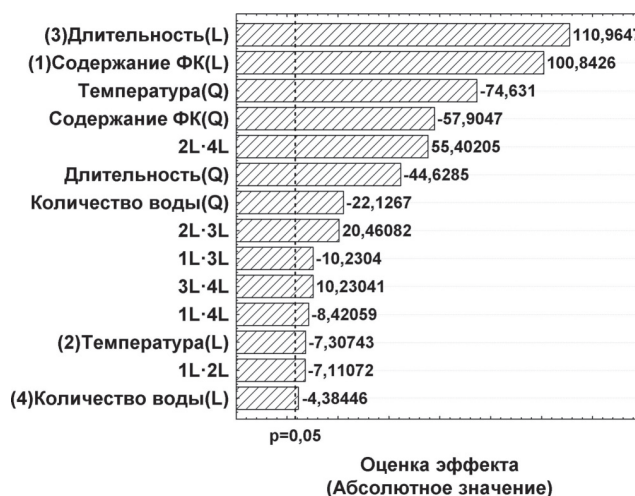


Рис. 1. Диаграмма Парето

(L – линейный эффект, Q – квадратичный эффект)

Таблица 2. Матрица планирования эксперимента

№	Содержание ферментного комплекса, е, % от массы мятки		Температура, t, °С		Длительность обработки, τ, ч		Количество воды, m, % от массы мятки		Выход масла Y, % от общего количества
	Значение		Значение		Значение		Значение		
	Код.	%	Код.	°С	Код.	Часы	Код.	%	
1	1	0,8	1	56	1	5	-1	66	77,0
2	1	0,8	1	56	-1	2	-1	66	74,1
3	1	0,8	-1	44	1	5	1	84	76,7
4	-1	0,3	1	56	-1	2	1	84	72,6
5	1	0,8	-1	44	-1	2	1	84	74,5
6	-1	0,3	-1	44	1	5	-1	66	75,5
7	-1	0,3	1	56	1	5	1	84	76,9
8	-1	0,3	-1	44	-1	2	-1	66	73,3
9	-1,68	0,1	0	50	0	3,5	0	75	72,0
10	1,68	1	0	50	0	3,5	0	75	78,9
11	0	0,55	-1,68	40	0	3,5	0	75	75,1
12	0	0,55	1,68	60	0	3,5	0	75	74,6
13	0	0,55	0	50	-1,68	1	0	75	73,6
14	0	0,55	0	50	1,68	6	0	75	78,5
15	0	0,55	0	50	0	3,5	1,68	60	77,1
16	0	0,55	0	50	0	3,5	1,68	90	76,8
17	0	0,55	0	50	0	3,5	0	75	77,9
18	0	0,55	0	50	0	3,5	0	75	77,8



Таблица 3. Дисперсионный анализ

Фактор	Сумма квадратов, SS	Степень свободы, df	Среднее значение квадрата, MS	F-критерий	Уровень значимости, p
(1) Содержание ФК, % (L)	23,80500	1	23,80500	10169,23	0,000002
Содержание ФК, % (Q)	7,84889	1	7,84889	3352,96	0,000011
(2) Температура, °C (L)	0,12500	1	0,12500	53,40	0,005292
Температура, °C (Q)	13,03823	1	13,03823	5569,78	0,000005
(3) Длительность обработки, ч (L)	28,82369	1	28,82369	12313,16	0,000002
Длительность обработки, ч (Q)	4,66235	1	4,66235	1991,71	0,000025
(4) Количество воды, %; (L)	0,04500	1	0,04500	19,22	0,021970
Количество воды, %; (Q)	1,14607	1	1,14607	489,59	0,000202
1L · 2L	0,11836	1	0,11836	50,56	0,005723
1L · 3L	0,24500	1	0,24500	104,66	0,001991
1L · 4L	0,16598	1	0,16598	70,91	0,003514
2L · 3L	0,98000	1	0,98000	418,65	0,000255
2L · 4L	7,18508	1	7,18508	3069,39	0,000013
3L · 4L	0,24500	1	0,24500	104,66	0,001991
Погрешность	0,00702	3	0,00234		
Общая сумма квадратов	73,70500	17			

Коэффициент детерминации $R^2=0,9333$

На основе математической зависимости (3) были определены оптимальные параметры процесса, которые имеют следующие значения: количество ферментного комплекса – 0,82% от массы мятки, температура – 51,6°C, длительность обработки – 5,2 ч, количество воды – 78,5% от массы мятки. При соблюдении указанных параметров выход прессового масла в условиях эксперимента составлял 79,6% от общей масличности семян. В контрольном опыте выход масла был равен 67%.

С целью изучения основных закономерностей влияния предикторов на степень извлечения масла были построены поверхности отклика. Они отражают зависимость выхода конечного продукта от каждой пары факторов при фиксировании в оптимуме значений двух других (рис. 2–5).

Анализ графических данных рис. 2 и 5 свидетельствует о том, что рациональный температурный режим для выбранного ферментного комплекса находится в диапазоне 45–57°C. При этом его максимальная активность проявляется при 51,6°C. Повышение температуры выше оптимального значения приводит к постепенной инактивации комплекса вследствие денатурации апоферментов.

Согласно графическим данным, представленным на рис. 2–4, максимальная степень извлечения масла (79,6%) достигается при обработке сырья в течение 5,2 ч. При более продолжительном воздействии энзимов на маслосодержащий материал не происходит значитель-

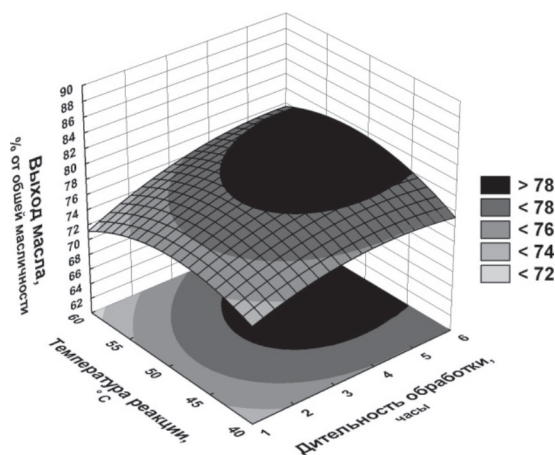


Рис. 2. Зависимость выхода масла от длительности обработки и температуры

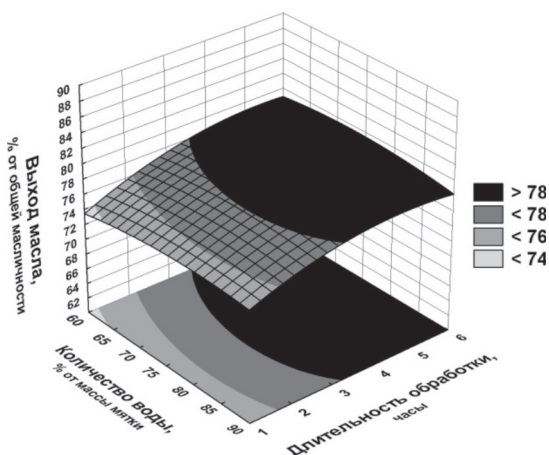


Рис. 3. Зависимость выхода масла от длительности обработки и количества воды

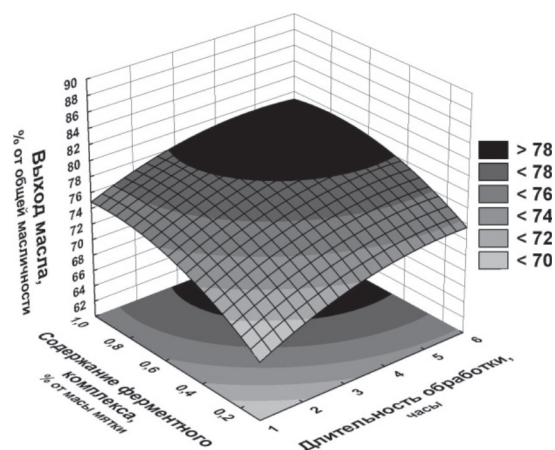


Рис. 4. Зависимость выхода масла от содержания ферментного комплекса и длительности обработки

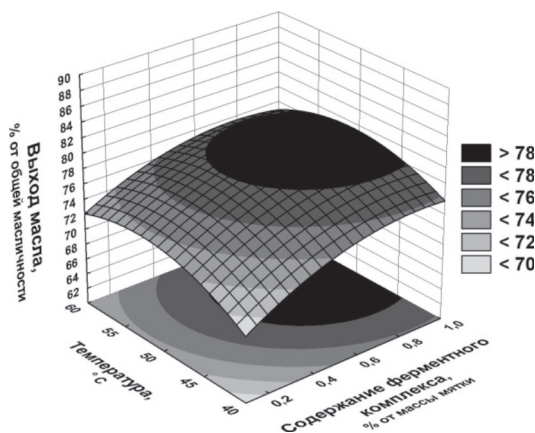


Рис. 5. Зависимость выхода масла от содержания ферментного комплекса и температуры

ного увеличения выхода целевого продукта, т.к. система, вероятно, достигает равновесия.

Увеличение количества водной фазы в системе обеспечивает более полное взаимодействие ферментов с мяткой и оказывает положительное влияние на выход липидов (рис. 3). Повышение гидромодуля выше рационального значения может приводить к образованию эмульсии, удерживающей жировую фазу, и тем самым снижать выход свободного масла.

Согласно данным рис. 4 и 5 при увеличении содержания ферментного комплекса до 0,82% выход масла возрастает. Дальнейшее повышение содержания энзимов в системе практически не влияет на выход целевого продукта. Это предположительно объясняется тем, что при определенной концентрации фермент насыщает поверхность раздела фаз, и увеличение его количества не оказывает значительного влияния на выход масла.

6. Выводы

В результате исследования показана возможность применения комплекса ферментных препаратов целлюлолитического и протеолитического действия для увеличения степени извлечения масла на стадии прессования. Получена математическая модель, на основании которой можно прогнозировать зависимость степени извлечения масла от основных предикторов. Установлены оптимальные параметры процесса, которые дают возможность получить максимальный выход масла: температура – 51,6°C, длительность обработки – 5,2 ч, количество воды – 78,5% от массы мятки, количество ферментного препарата – 0,82% от массы мятки. Выход продукта при указанных значениях предикторов составляет 79,6% от общей масличности сырья.

Литература

1. Щербаков, В. Г. Технология получения растительных масел [Текст] / В. Г. Щербаков. — М.: Колос, 1992. — 207 с.
2. Щербаков, В. Г. Электронномикроскопическое исследование продуктов переработки подсолнечных семян [Текст] / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов // Масложировая промышленность. — 1977. — №8. — С. 14–16.
3. Демченко, П. П. Влияние режимов влаготепловой обработки на локализацию масла в клетках семян подсолнечника [Текст] / П. П. Демченко, В. В. Ключкин, В. Н. Бриг, В. Г. Лобанов, В. Г. Щербаков // Масложировая промышленность. — 1982. — № 2. — С. 18–20.
4. Зайцева, А. В. Извлечение растительных масел с применением ферментных препаратов [Текст] / А. В. Зайцева, Р. Р. Сироткиной, А. П. Нечаев // Масложировая промышленность. — 1999. — №4. — С. 14–17.
5. Concha, J. C. Enzymatic pretreatment on rose-hip oil extract hydrolysis and pressing conditions [Text] / J. C. Concha, R. C. Soto, M.E. Zúñiga // J. Am. Oil Chem. Soc. 2004. — V. 81. — N. 6. — P. 549–552.
6. Hanmoungjai, P. Enzyme-assisted water-extraction of oil and protein from rice bran [Text] / P. Hanmoungjai, D.L. Pyle, K. Niranjana // J. Chem. Technol. Biotechnol. 2002. — V. 77. — N. 7. — P. 771–776.
7. Ranalli, A. Improving virgin olive oil quality by means of innovative extracting biotechnologies [Text] / A. Ranalli, T. Gomes, D. Delcuratolo, S. Contentto, J. L. Lucera // Agric. Food Chem. 2003. — V. 51. — N. 9. — P. 2597–2602.
8. Najaifan, L. Aqueous extraction of virgin olive oil using industrial enzymes [Text] / L. Najaifan, A. Ghodsvai, M.H.H. Khodaparast, L.L. Diosady // Food Res. Intern. 2009. — V. 42. — N. 1. — P. 171–175.
9. Sharma, A. Enzyme-assisted aqueous extraction of rice bran oil [Text] / A. Sharma, S.K. Khare, M.N. Gupta // J. Amer. Oil Chem. Soc. 2001. — V. 78. — N. 9. — P. 949–951.
10. Soto, C. Enzymatic hydrolysis and pressing conditions effect on borage oil extraction by cold pressing [Text] / C. Soto, R. Chamy, M.E. Zuniga // Food Chem. 2007. — V. 102. — N. 3. — P. 834–840.
11. Chen, B.K. Enzymatic aqueous processing of coconuts [Text] / B.K. Chen, L.L. Diosady // Inter. J. Appl. Sci. Engine. 2003. — V. 1. — N. 1. — P. 55–61.
12. Способ получения масла из высокомасличного растительного материала [Текст] : пат. 2094451 Рос. Федерация: МПК С 11 В 1/00 / Ключкин В.В., Кислухина О.В., Павлова Н.М., Надыкта В.Д.; заявитель и патентообладатель Северо-Кавказский филиал Всесоюзного НИИ жиров НПО «Масложир-пром». — №5003846/13; заявл. 02.10.96; опубл. 27.10.97.
13. Nobrega de Moura, J.M.L. Enzyme-assisted aqueous extraction of soybeans and cream de-emulsification [Text] / J.M.L. Nobrega de Moura, K. Campbell, A. Mahfuz, S. Jung, C.E. Glatz, L. A. Johnson // J. Amer. Oil Chem. Soc. 2008. — V. 85. — P. 985–995.
14. Lanzani, A. On the use of enzymes for vegetable oil extraction. A preliminary report [Text] / A. Lanzani, M. C. Petri, O. Cozzoli, P. Gallavresi, C. Carola, C. Jacini // La Rivista Italiana Della Sostanze Grasse. 1975. — V. 11. — N. 52. — P. 226–229.
15. Danso-Boateng, E. Effect of enzyme and heat pretreatment on sunflower oil recovery using aqueous and hexane extractions [Text] / E. Danso-Boateng // Int. J. of Chemical and Biological Engineering. 2011. — V. 4. — 1. — P. 28–34.
16. Latif, S. Physicochemical studies of hemp (Cannabis sativa) seed oil using enzyme assisted cold-pressing [Text] / S. Latif, F. Anwar // Euro. J. Lipid Sci. Technol. 2009b. — V. 111. — N. 10. — P. 1042–1048.
17. Материалы завода био- и ферментных препаратов «Энзим»
18. ТУ У 24.1-32813696-016:2008 «Препараты ферментные для пищевой промышленности. Технические условия».
19. Насіннєрушка-2 Іхно [Текст] : пат. 17430 Україна: МКИ B02B 3/00, 3/02 / Іхно М. П.; заявник і патентовласник Харківський державний політехнічний університет. — № 95042099; заявл. 27.04.95; опубл. 16.10.2000. Бюл. №5. — 8 с.
20. Лабораторный практикум по технологии производства растительных масел [Текст] / В. М. Копейковский, А. К. Мосян, А. А. Мхитарянц, В. Е. Тарасов. — М.: Агропроиздат, 1990. — 191 с.
21. ДСТУ 4811:2007. Насіння олійних культур. Методи визначення вологості. [Текст]. — Введ. 2009-01-01. — К.: Держспоживстандарт, 2009. — 12 с.
22. ДСТУ ISO 659:2007. Насіння олійне. Визначення вмісту олії (контрольний метод) (ISO 659:1998, IDT) [Текст]. — Введ. 2009-01-01. — К.: Держспоживстандарт, 2009. — 14 с.
23. Myers, R. H. [Text] / Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments / R. H. Myers, D. C. Montgomery, C. M. Anderson-Cook. — John Wiley & Sons, 2009. — 704 p.